

(11)Publication number : 09-192633  
(43)Date of publication of application : 29.07.1997

B09B 3/00  
C08J 11/06  
C12N 1/14  
// C08G 18/76  
(C12N 1/14  
C12R 1:645 )

(72)Inventor : SUTEFUAN OOEN  
OOTANI TAKASHI  
MASAOKA SATOSHI  
OE TATSUHIKO

**Priority number : 07116149    Priority date : 15.05.1995    Priority country : JP**

**SOLUTION:** At the time of decomposing the urethane compd. used as a cushioning material, etc., the decomposition is executed by using the bacteria belonging to Exophiala genus by referring a point that an urethane bonding part of the urethane compd. is broken down with the bacteria belonging to the Exophiala genus. Exophiala jeanselmei, Exophiala dermatit, Exophiala alcalophila, etc., are exemplified as the bacteria and Exophiala jeanselmei REN-11A is used preferably as the bacteria belonging to the Exophiala jeanselmei capable of breaking down the urethane bonding part of the urethane compd. The compd. in which a nitrogen atom of the urethane bonding part is jointed to a six ring aromatic ring is used as the urethane compd.

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-192633

(43) 公開日 平成9年(1997)7月29日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
B 0 9 B 3/00	Z A B		B 0 9 B 3/00	Z A B A
C 0 8 J 11/06	C F F		C 0 8 J 11/06	C F F
C 1 2 N 1/14			C 1 2 N 1/14	A
// C 0 8 G 18/76	N F H		C 0 8 G 18/76	N F H
(C 1 2 N 1/14				

審査請求 未請求 請求項の数4 O L (全 10 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平8-113521

(22) 出願日 平成8年(1996)5月8日

(31) 優先権主張番号 特願平7-116149

(32) 優先日 平7(1995)5月15日

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 000115980

レンゴー株式会社

大阪府大阪市福島区大開4丁目1番186号

(71) 出願人 591030499

大阪市

大阪府大阪市北区中之島1-3-20

(72) 発明者 ステファン オーエン

大阪市福島区大開4丁目1番186号 レン  
ゴー株式会社中央研究所内

(72) 発明者 大谷 丘士

大阪市福島区大開4丁目1番186号 レン  
ゴー株式会社中央研究所内

(74) 代理人 弁理士 高島 一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ウレタン化合物の分解方法および該化合物を分解する菌

(57) 【要約】

【解決手段】 エキソフィアラ属 (*Exophiala*) に属する菌を用いて、ウレタン化合物を分解する方法の提供。

【効果】 ウレタン化合物、特に、ウレタン結合部の窒素原子が6員芳香環の炭素原子に結合したウレタン化合物が好適に分解されるので、かかる構造を有するウレタン化合物は環境に優しい生分解性ポリウレタンとして応用できる。かかるポリウレタンを本発明の分解方法により処理することによって、ポリウレタンを無公害で廃棄処理することが可能となる。また、上記構造を有するカルバメイト系殺虫剤、防腐剤、農薬などの生分解にも大きな可能性を有しており、土壌汚染、水質汚濁などの環境問題も解決することができる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 エキソフィアラ属に属する菌を用いてウレタン化合物を分解する方法。

【請求項2】 ウレタン化合物が、ウレタン結合部の窒素原子が6員芳香環に結合した化合物である請求項1記載の方法。

【請求項3】 該6員芳香環の炭素原子に少なくとも一つの置換基が結合した構造である請求項2記載の方法。

【請求項4】 エキソフィアラ・ジェンセルメイREN-11A (FERMP-14811)。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、ウレタン化合物の分解方法および該化合物を分解する新規な菌に関するものである。

【0002】

【従来の技術】緩衝材等として使われている発泡スチロールは生分解性がないので、環境保護の観点から問題視されており、発泡スチロールの代替品として生分解性ポリウレタンの研究開発が行われている。

【0003】ポリウレタンの生分解性に関する報告としては、特開昭63-278924号公報、特開平4-13710号公報、Appl. Microbiol., vol. 16, p 900 (1968)、科学と工業, vol. 67, p324 (1993)、J. Appl. Biomaterials, vol.5, p1 (1994) 等があるが、これらは単にポリウレタンの生分解性(重量減少、強度劣化等)についてのみ報告しており、ウレタン結合部の分解性については言及していない。

【0004】一方、低分子量のウレタン化合物の生分解性に関する研究も行われており、これらウレタン結合分解菌または分解酵素に関する報告としては、例えば特開平1-240179号公報、特開平1-300892号公報、特開平3-175985号公報、特開平4-104784号公報、J. Agr. Food Chem., vol. 13, p 561 (1965)等がある。しかし、これらの報告は殺虫剤、防腐剤等に関するもの、あるいは酒類の品質改良に関するものであり、特定の低分子ウレタン化合物を生分解させる技術にとどまっており、分解されるウレタン化合物の構造からして、ポリウレタンの生分解に応用できる技術ではない。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、ポリウレタン等のウレタン化合物を分解する方法を開発し、もってウレタン廃棄物の分解処理を容易にすること、お\*

\*よび環境に優しい生分解性ポリウレタンの開発に寄与することである。さらに本発明の他の目的は、ウレタン化合物の分解方法に好適に使用し得る新規な菌を得ることである。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記実情に鑑み、鋭意研究を重ねた結果、エキソフィアラ属に属する菌がウレタン化合物のウレタン結合部を開裂し得ることを見だし、本発明を完成させるに至ったものである。

10

【0007】即ち、本発明は、エキソフィアラ属 (*Exophiala*) に属する菌を用いてウレタン化合物を分解する方法に関するものである。かかる菌としては、エキソフィアラ・ジェンセルメイ (*Exophiala jeanselmei*)、エキソフィアラ・デルマチチディス (*Exophiala dermatitidis*)、エキソフィアラ・アルカロフィラ (*Exophiala alcalophila*)、エキソフィアラ・カステラニー (*Exophiala castellanii*)、エキソフィアラ・マンソニー (*Exophiala mansonii*)、エキソフィアラ・ビスキフィラ (*Exophiala pisciphila*)、エキソフィアラ・サイクロフィラ (*Exophiala psychrophila*)、エキソフィアラ・サルモニス (*Exophiala salmonis*)、エキソフィアラ・スピニフィラ (*Exophiala spinifera*) 等が挙げられる。

20

【0008】また本発明は、ウレタン化合物のウレタン結合部を開裂し得るエキソフィアラ・ジェンセルメイ (*Exophiala jeanselmei*) に属する新規な菌、エキソフィアラ・ジェンセルメイREN-11A (寄託番号FERMP-14811) に関するものである。

30

【0009】以下に、エキソフィアラ・ジェンセルメイREN-11A (以下単に「REN-11A」という。) の菌学的性質を記載する。なお、表1に記載のATCC10224およびATCC16637 は、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション [American Type Culture Collection (ATCC), 12301 Parklawn Drive Rockville, Maryland 20852] における寄託番号を示し、これらの菌はATCC発行の「ATCC Catalogue of FUNGI/YEASTS, 16th edition, 1984」に掲載されている公知の菌であり、いずれもエキソフィアラ・ジェンセルメイに属する菌である。

40

【0010】(1) 培地における生育状態(培養条件: 25℃, 14日間)

【0011】

【表1】

培地種類	REN-11A	ATCC10224	ATCC16637
サブロー寒天培地	旺	旺	旺
ポテトグルコース寒天培地	盛	盛	盛
麦芽エキス寒天培地	中	中	中
YpSs寒天培地	微	微	微
ツァベック寒天培地	弱	弱	弱



【0012】(2) 生理的、生態的性質

①生育のpH範囲(サブロー寒天培地、25℃、14日間): pH4~10

②生育の最適pH(サブロー寒天培地、25℃、14日間): pH7付近

③生育の温度範囲(サブロー寒天培地、25℃、14日間): 13~34℃

④生育の最適温度(サブロー寒天培地、25℃、14日間): 28℃付近

⑤コロニーの形状: 室温での発育は遅く(10~14日、ATCC10224は10日、ATCC16637は7日)、サブロー寒天培地上では25℃、10~14日間の培養で酵母様の集落を形成する。その集落は中心が隆起しており、裏面は黒褐色、表面は灰色のピロード状短繊毛で覆われている。

⑥菌糸および分生子の形状: 有隔壁の菌糸体からなり、側面に短い分生子柄を生じる。分生子は2~2.5μm程度の卵形である。

⑦酸素要求性: 通性好気性

【0013】以上の菌学的性質から、本菌はエキソフィアラ属に属するものと推定され、さらにInternational Mycological Institute (Bakeham Lane, Egham, Surrey TW20 9TY, England) によって、エキソフィアラ・ジェンセルメイに属するものと同定された(IMI No. 362754)。

【0014】本発明のウレタン化合物の分解方法に用いられるエキソフィアラ属に属する菌は常法により培養される。培地成分の炭素源、窒素源、リン源および無機塩は、本菌が資化し得る物質であれば特に限定されない。炭素源としては、グルコース、マルトース、サッカロース、セロビオース、デンプン加水分解液、蔗糖蜜等の糖類、クエン酸、酒石酸、コハク酸、リンゴ酸、グルタル酸等の有機酸が例示される。窒素源としては、硝酸塩、アンモニウム塩等の無機態窒素、尿素、アミノ酸等の有機態窒素が例示される。リン源としては、リン酸カリウム等のリン酸塩が例示される。無機塩としては、カリウム、ナトリウム、カルシウム等の金属の塩が例示される。また、所望により、鉄、マンガン、マグネシウム、コバルト、銅、ニッケル等の微量成分、ビタミン、ホルモン等を用いることもできる。さらに、これらを含む肉エキス、酵母エキス、麦芽エキス、ペプトン、ポリペプトン、コーンステープリカー、カゼイン加水分解物等の窒素含有有機物等を用いることもできる。

【0015】エキソフィアラ属に属する菌の培養は、通常、振盪培養または通気攪拌深部培養等下で行われる。培養温度は、通常、10~35℃程度、好ましくは20~30℃程度に設定する。培養液のpHは、通常、4~10、好ましくは5~9程度に設定する。培養方式は、回分式、半連続式、連続式のいずれでもよい。例えば、

回分式における培養時間は、培地成分の種類、濃度、培養条件等により異なるが、通常、少なくとも5日間程度、好ましくは8~10日間程度である。

【0016】以上のようにしてエキソフィアラ属に属する菌を培養して得られた培養液から濾過、遠心分離等の通常の固液分離手段により菌を回収し、該菌を後述するウレタン化合物の分解に使用する。また、エキソフィアラ属に属する菌を培養して得られた培養液および/または菌に処理を施した処理物を用いることもできる。培養液の処理物としては、培養液の濃縮物、乾燥物、界面活性剤および/または有機溶剤添加物、溶菌酵素処理物等が例示される。菌の処理物としては、菌の乾燥物、界面活性剤および/または有機溶剤添加物、溶菌酵素処理物、固定化菌または菌からの抽出酵素標品等が例示される。

【0017】さらに、培養菌、培養液から酵素等を精製して用いることもできる。菌、培養液から酵素等を単離精製するには、通常の単離精製法を用いればよく、酵素等が菌内に存在する場合には、例えば遠心分離等により集菌された菌を破砕機、超音波、フレンチプレス、リゾチームによる消化等により破砕する。通常は緩衝液中で破砕され、菌を除去して抽出液を得る。抽出液から酵素等を単離するには、除蛋白した後、またはしないで、例えば硫酸飽和あるいは溶媒沈澱法等により、酵素などを沈殿させて沈澱物を回収する。得られた沈澱物を、所望により緩衝液に溶解し、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティクロマトグラフィー、疎水クロマトグラフィー、吸着クロマトグラフィー、ゲル濾過法、塩析法、水性二相分配法等により精製する。酵素等が菌外に産生される場合には、菌の破砕を要せず、培養液を遠心分離して、その上清を上記と同様に精製する。

【0018】エキソフィアラ属に属する菌を使用するに際しては、該菌、培養液、菌および/または培養液の処理物、酵素等をそのまま、あるいは水溶液に懸濁または溶解して分解剤として用いてもよく、また多孔性物質を併用して分解剤とすることもできる。多孔性物質としては、該菌を阻害しないものであればよく、例えば珪藻土、タルク、バーミキュライト、多孔性ガラス、酸性白土、漂白土、ビートモス、バーライト、カオリナイト、アルミナ、ベントナイト、ゼオライト、トバモライト、ヒドロキシアパタイト、リン酸カルシウム、セラミックス、金属酸化物、軽石、砂、レンガ、活性炭、シリカゲル等が例示される。これらの多孔性物質と該菌および/または酵素等を混合ないし混練して、これらの多孔性物質の表面に付着させるか、あるいはこれらの多孔性物質に吸着担持させて分解剤とすることができる。

【0019】また、エキソフィアラ属に属する菌および/または酵素等を担体に固定化して分解剤とすることもできる。担体としては、例えばセルロース、デキストラン、アガロース、澱粉等の多糖類、その誘導体、ゼラチ

ン、アルブミン、コラーゲン、グルテン、絹糸等のタンパク質、コンニャク粉、 $\kappa$ （カッパー）-カラギーナン、アルギン酸、ローカストビーンガム等の天然高分子物質、ポリアクリルアミド、ポリヒドロキシアクリレート、エチレン-無水マレイン酸共重合体、ポリスチレン、ナイロン、ポリビニルアルコール、ポリ酢酸ビニル、ポリイソブチレン、アクリルアミド-ヒドロキシエチルメタクリレート共重合体、シリコーン樹脂等の合成高分子物質等が例示される。これら担体に固定化するには、担体結合法、架橋法、包括法、吸着法等を採用することができ

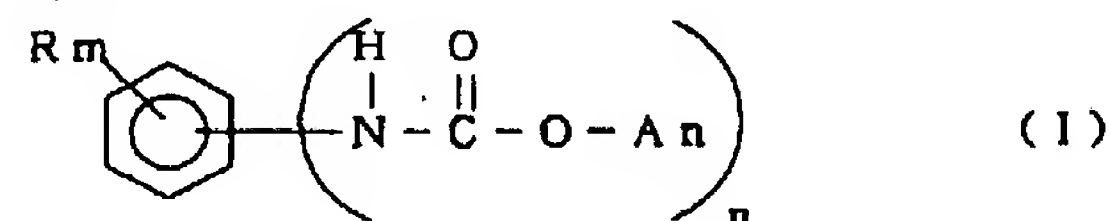
【0020】かかる分解剤におけるエキソフィアラ属に属する菌および／または酵素等の含有量は、用いる該菌または酵素等の活性の強さ、多孔性物質の種類、担体の種類、固定化方法、使用方法、使用条件等により適宜設定することができるが、通常、0.1～20w/w%程度、好ましくは0.1～10w/w%程度である。

【0021】エキソフィアラ属に属する菌（以下、上記培養液、菌および培養液の処理物、酵素等、分解剤を包含する。）は、例えば6員芳香環の炭素原子に、ウレタン結合部（-NH-CO-O-）の窒素原子が結合した構造を有するウレタン化合物のウレタン結合部を開裂して、ウレタン化合物を分解することができる。

【0022】該ウレタン化合物は、少なくとも一つの置換基が6員芳香環の炭素原子に結合した構造を有していてもよく、かかる置換基としては、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基等の直鎖状および分枝鎖状の脂肪族炭化水素基、水酸基、直鎖状および分枝鎖状のアルコキシ基、ハロゲン原子、ハロゲン化された直鎖および分枝鎖状のアルキル基、その他の炭素環式化合物であってもよく、炭素数1～4の直鎖および分枝鎖状のアルキル基等が例示される。該ウレタン化合物の例を下記の一般式（I）に示す。

【0023】

【化1】



【0024】一般式（I）においてmは0～5の整数、好ましくは1または2であり、Rmは6員芳香環の炭素原子に結合するm個の置換基（R）を示す。例えばmが3であれば、R1、R2、R3の3種類の置換基（これらは同一または互いに異なっているいてもよい。）が6員芳香環に置換していることを表す。また、nは1～6の自然数、好ましくは1または2であり、Anはn個の有機残基（A）を示す。例えばnが3であれば、A1、A2、A3の3種類の有機残基（これらは同一または互いに異なっているいてもよい。）がそれぞれウレタン結合部を介して6員芳香環に置換していることを表す。

【0025】有機残基（A）としては特に限定されず、アルキル基等の飽和炭化水素基、芳香族炭化水素基等の不飽和炭化水素基等が例示される。

【0026】本発明の分解方法においては、上記の6員芳香環を有するウレタン化合物を含むウレタン化合物の分解に、エキソフィアラ属に属する菌を使用するものであり、該菌とウレタン化合物とを混合ないし混練等により両者を接触させることによって、ウレタン化合物のウレタン結合部が開裂され、該化合物を分解することができる。ウレタン化合物と該菌との接触は、例えば分解対象物であるウレタン化合物を含む培地中にて、該菌を培養することによって達成され、培養条件は上記と同様でよい。

【0027】

【実施例】以下、参考例、実施例、実験例によって本発明をより詳細に説明するが、本発明はこれらにより限定されるものではない。なお、以下の濃度表示において「%」は、w/w%を表す。

【0028】実施例1（REN-11Aの単離）

1. 第一次スクリーニング

兵庫県内のウレタン工場から採取した土壌約1gを、唯一の炭素源としてトリレン-2,4-ジカルバミン酸ジエチルエステル（以下「ウレタン化合物A」という。初濃度0.1%）を含む下記組成aの無機培地10mlに添加し、継代培養を10回繰り返して、生存菌25株を得た（バクテリア23株、カビ2株）。

【0029】培地組成a：NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 0.1%，K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.2%，KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.2%，MgSO<sub>4</sub> 0.05%，Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.001%，FeSO<sub>4</sub> 0.0004%，ZnSO<sub>4</sub> 0.0004%，MnCl<sub>2</sub> 0.0002%，pH=6.2

【0030】培養条件：27℃、125rpm、7日間

【0031】2. 第二次スクリーニング

唯一の炭素源としてウレタン化合物A（初濃度280μM）を含む上記組成aの無機培地に、第一次スクリーニングで得られた菌25株をそれぞれ接種し、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）によりウレタン化合物Aの分解能を比較した。

【0032】培養条件：27℃、125rpm、9日間

【0033】分析条件：培養9日目の培養液をサンプリングし、HPLCで分析した〔カラム：ODS-80Tm（東ソー（株）製、4.6φ×250mm）、カラム温度：40℃、移動相：アセトニトリル/水=30/70、移動相流速：0.8ml/分、検出UV：225nm〕。

【0034】菌25株のうちウレタン化合物Aを分解する菌1株（REN-11A）を得た。

【0035】実施例2（REN-11Aによるウレタン化合物Aの分解生成物の同定）

50 ウレタン化合物A（初濃度3.7mM）を含む下記組成

bの無機培地にREN-11Aの孢子懸濁液を接種し、所定時間培養したのち培養液中の分解生成物を分析した。

【0036】培地組成b: NH<sub>4</sub> NO<sub>3</sub> 0.1%, K<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub> 0.07%, KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> 0.07%, MgSO<sub>4</sub> 0.07%, NaCl 0.0005%, FeSO<sub>4</sub> 0.0002%, ZnSO<sub>4</sub> 0.0002%, MnSO<sub>4</sub> 0.0002%, pH=6.2

【0037】培養条件: 25℃, 125rpm, 5日間

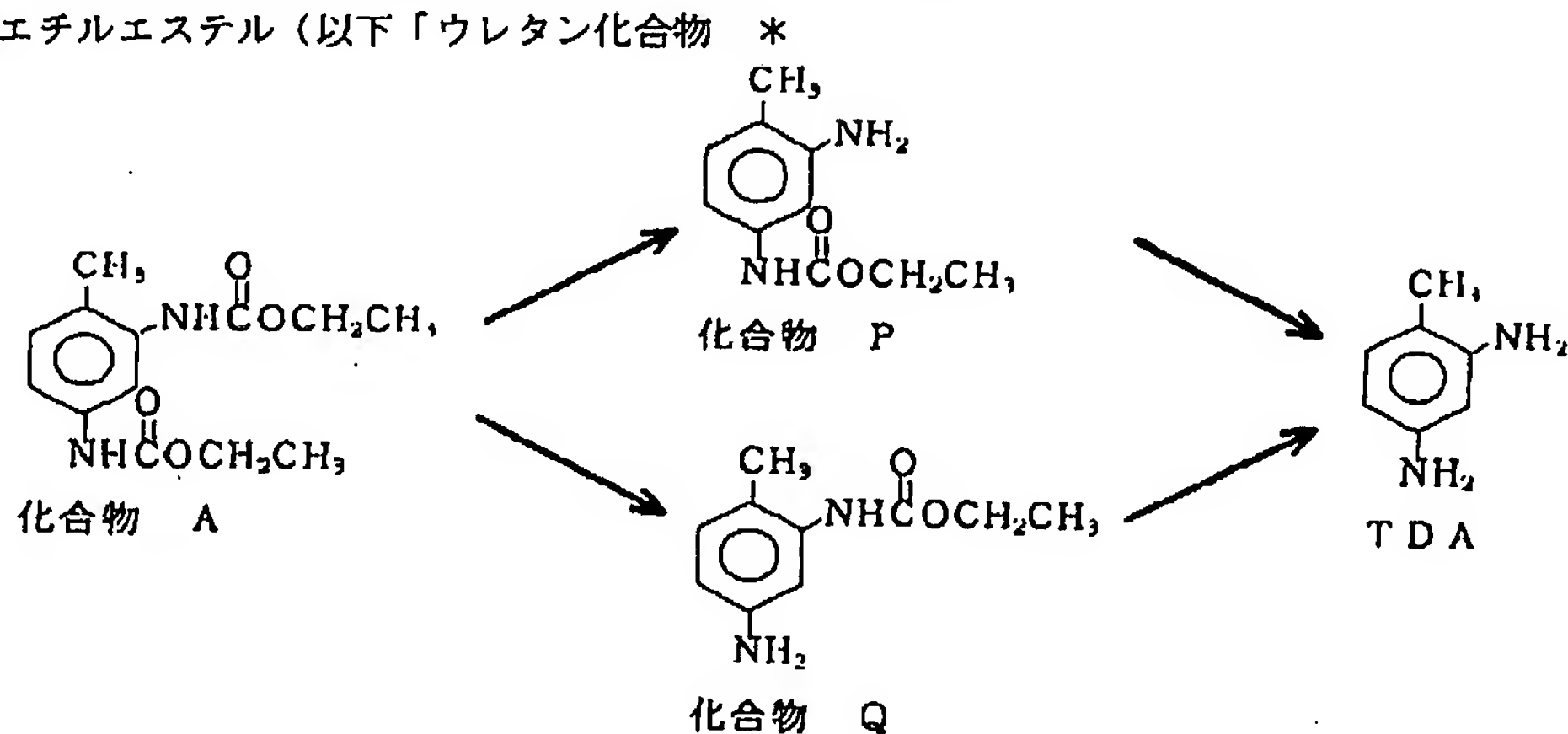
【0038】分析条件: 培養5日目の培養液をクロロホルムで抽出し、ガスクロマトグラフ(GC)-マススペクトル(MS)で分析した(日本電子(株)製)〔カラム: OV-17(ジーエルサイエンス(株)製, 30m×0.25mm×0.25μm), カラム温度: 50℃-15℃/分昇温-200℃(7分間保持)-15℃/分昇温-240℃(5分間保持), 注入口温度: 240℃, イオン化法: EI+法, イオン源温度: 250℃, イオン化電圧: 70eV〕。

【0039】分解生成物の分析結果を図1に示す。図1において、Aは培養液のクロロホルム抽出物のガスクロマトグラフ、B~DはAにおけるピークI, II, IIIの成分のマススペクトル、Eは3-アミノ-4-メチルフェニルカルバミン酸エチルエステル(以下「ウレタン化合物P」という。)、5-アミノ-2-メチルフェニルカルバミン酸エチルエステル(以下「ウレタン化合物

10 \*Q」という。)、トリレン-2, 4-ジアミン(以下「TDA」という。))の各標準物質の混合物のガスクロマトグラフ、F~Hはウレタン化合物P, QおよびTDAの各標準物質のマススペクトルである。  
【0040】以上の結果、培養液中からウレタン化合物A以外に3種の化合物が検出され、それぞれウレタン化合物P、ウレタン化合物Q、TDAと同定された。  
【0041】実施例3(ウレタン化合物Aの消費、ウレタン化合物P, QおよびTDA生産の経日変化)  
ウレタン化合物A(初濃度300μM)を含む上記組成bの無機培地にREN-11Aの孢子懸濁液(1×10<sup>8</sup>ヶ/ml)を接種し、ウレタン化合物Aの消費、ウレタン化合物P, QおよびTDA生産の経日変化を測定した。なお、培養条件は実施例2と同様に25℃, 125rpmとし、所定日数ごとに培養液をサンプリングしてHPLC(分析条件は実施例1と同じ。)で分析した。結果を図2にまとめた。図2の結果から、REN-11Aによりウレタン化合物Aが消費されて、ウレタン化合物P, QおよびTDAが生産されることが確認された。  
【0042】上記の実施例2, 3の結果から、ウレタン化合物AはREN-11Aによって下記式のように分解されることが考えられた。

【0043】

【化2】



【0044】実施例4(REN-11Aの基質特異性)  
ウレタン化合物Aに類似するウレタン化合物に対するREN-11Aの基質特異性を調べた。類似化合物としては、カルバミン酸、(3-メチルフェニル)-, エチルエステル(ウレタン化合物B)、カルバミン酸、(2-メチルフェニル)-, エチルエステル(ウレタン化合物C)、カルバミン酸、(4-メチルフェニル)-, エチルエステル(ウレタン化合物D)、トリレン-2, 6-ジカルバミン酸ジエチルエステル(ウレタン化合物E)、トリレン-3, 4-ジカルバミン酸ジエチルエステル(ウレタン化合物F)、トリレン-2, 4-ジカルバミン酸ジメチルエステル(ウレタン化合物G)、カル

バミン酸フェニルエチルエステル(ウレタン化合物H)を用いた。

【0045】基質として各類似化合物(各初濃度300μM)をそれぞれ含む上記組成bの無機培地に、REN-11Aの孢子懸濁液(1×10<sup>8</sup>ヶ/ml)をそれぞれ接種して、各基質の消費を測定した。なお、培養条件は実施例2と同様に25℃, 125rpmとし、培養5日後に培養液をサンプリングしてHPLC(分析条件は実施例1と同じ。)で分析した。結果を表2にまとめた。表2の結果から、REN-11Aによりウレタン化合物Aのみならず、類似化合物も分解されることが確認された。

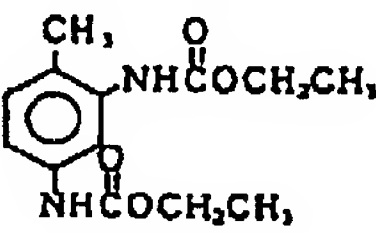
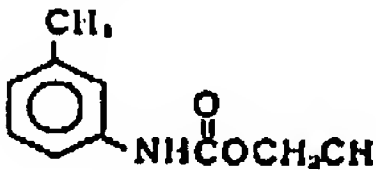
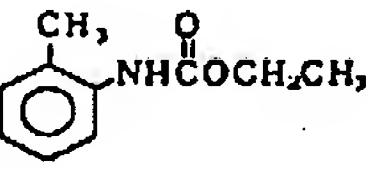
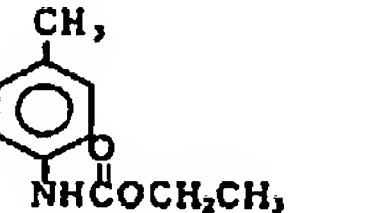
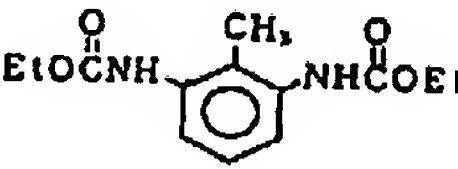
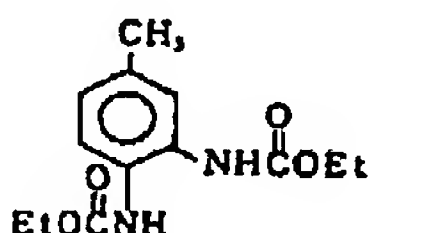
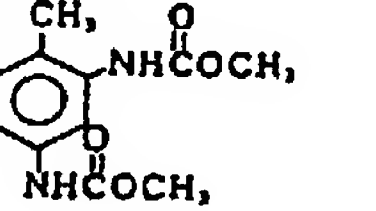
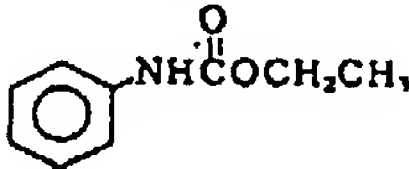


【0046】ウレタン化合物A、Eは、ポリウレタンを合成する際に広く用いられるTDI（トリレンジイソシアナート）を合成するための中間体になり得るから、REN-11AはTDIを用いたポリウレタンを分解あるいは低分子化させる全ての技術分野において広く応用で\*

\*き、環境に優しい生分解性ポリウレタンの開発に極めて有効なものである。

【0047】

【表2】

ウレタン化合物	構造式	培養6日目の 生分解率 (%)
A		100
B		32.0
C		48.5
D		29.2
E		100
F		12.3
G		52.0
H		29.3

【0048】実施例5（REN-11Aの生分解能）  
実施例4で用いたウレタン化合物よりも分子量の大きなウレタン化合物に対するREN-11Aの生分解能を調べた。この化合物としては、カルバミン酸、（4-メチルフェニル）-、（2-メトキシエチル）エステル（ウレタン化合物I）、ポリエチレングリコール-ビス（4-メチルフェニル）カルバミン酸エステル（ウレタン化合物J）、トリレン-2，4-ジカルバミン酸ジブチルエステル（ウレタン化合物K）、乳酸メチル-トリレン-2，4-ジカルバミン酸エステル（ウレタン化合物L）、乳酸-トリレン-2，4-ジカルバミン酸エステ

40 ル（ウレタン化合物M）を用いた。

【0049】上記のウレタン化合物は水に不溶なものであるが、下記組成Cの無機培地に各ウレタン化合物（0.5重量%）を添加した培地に、REN-11Aの孢子懸濁液（約 $1 \times 10^5$  ケ/ml）をそれぞれ接種し、15日間培養した後、培養液中の分解生成物を分析した。培養条件は実施例2と同様に25℃、125rpmとし、培養15日目に培養液をサンプリングし、遠心分離により孢子を除去して上清を得た。ウレタン化合物の生分解により生じた芳香族アミンと8-ナフトール3，6-ジスルホン酸とを亜硝酸ナトリウム及び塩酸の存在

下で反応させて、反応生成物の比色分析（波長540nm）を行った。対照としてREN-11Aの孢子懸濁液を添加しない以外は、同一の条件で15日間振盪したものを比色分析し、併せて結果を表3にまとめた（数値は吸光度を示す。）。表3の結果から、REN-11Aは分子量が大きく水に不溶解のウレタン化合物に対しても生分解能を有することが確認された。

\*

\*【0050】培地組成c: NH<sub>4</sub> NO<sub>3</sub> 0.1%, K<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub> 0.07%, MgSO<sub>4</sub> 0.05%, NaCl 0.001%; ZnCl<sub>2</sub> 0.0004%, FeSO<sub>4</sub> 0.0004%, MnSO<sub>4</sub> 0.0002%, pH=6.2  
【0051】  
【表3】

ウレタン化合物の構造式 REN-11A 対照

I		0.045	0.001
J		0.020	0.005
K		0.752	0.010
L		0.094	0.025
M		0.121	0.028

【0052】実施例6（エキソフィアラ・ジェンセルメイの他の菌によるウレタン化合物Aの分解）

ATCC保存菌からエキソフィアラ・ジェンセルメイに属する他の菌を取り寄せてウレタン化合物Aの分解能を調べた。

【0053】実施例3と同様にして、ウレタン化合物A（初濃度300μM）を含む上記組成bの無機培地に、エキソフィアラ・ジェンセルメイ ATCC No.10224および16637の孢子懸濁液（1×10<sup>8</sup>ヶ/ml）を接種し、所定時間ごとにHPLCで分析して、ウレタン化合物Aの消費、ウレタン化合物P、QおよびTDA生産の経日変化を測定した。

【0054】以上の結果を図3のa（ATCC No.10224）、b（ATCC No.16637）にそれぞれまとめた。図3の結果から、エキソフィアラ・ジェンセルメイ ATCC No.10224および16637 はいずれもウレタン化合物Aを消

費し、ウレタン化合物P、Qを生産し、REN-11Aのみならず、エキソフィアラ・ジェンセルメイに属する他の菌であってもウレタン化合物Aのウレタン結合を分解することが確認された。

【0055】また、REN-11A、ATCC No.10224およびNo.16637のエキソフィアラ・ジェンセルメイに属する各菌のウレタン化合物Aに対する分解能を対比して、図4にまとめた。図4から本発明の新規な菌であるREN-11Aが、エキソフィアラ・ジェンセルメイに属する他の公知の菌よりもウレタン化合物の生分解能に優れることが判る。

【0056】

【発明の効果】本発明の分解方法によれば、ウレタン化合物のウレタン結合部が開裂され、ウレタン化合物を生分解することができる。特に、ウレタン結合部の窒素原子が6員芳香環の炭素原子に結合したウレタン化合物が



好適に分解されるので、かかる構造を有するウレタン化合物は環境に優しい生分解性ポリウレタンとして応用できる。さらに、かかるポリウレタンを本発明の分解方法により処理することによって、ポリウレタンを無公害で廃棄処理することが可能となる。

【0057】また、上記構造を有するカルバメイト系殺虫剤、防腐剤、農薬などの生分解にも大きな可能性を有しており、土壤汚染、水質汚濁などの環境問題も解決することができる。

【0058】本発明の新規な菌は、エキソフィアラ属に属する他の公知の菌よりもウレタン化合物の生分解能に優れるから、本発明の分解方法に好適に用いることがで

\* きる。

【図面の簡単な説明】

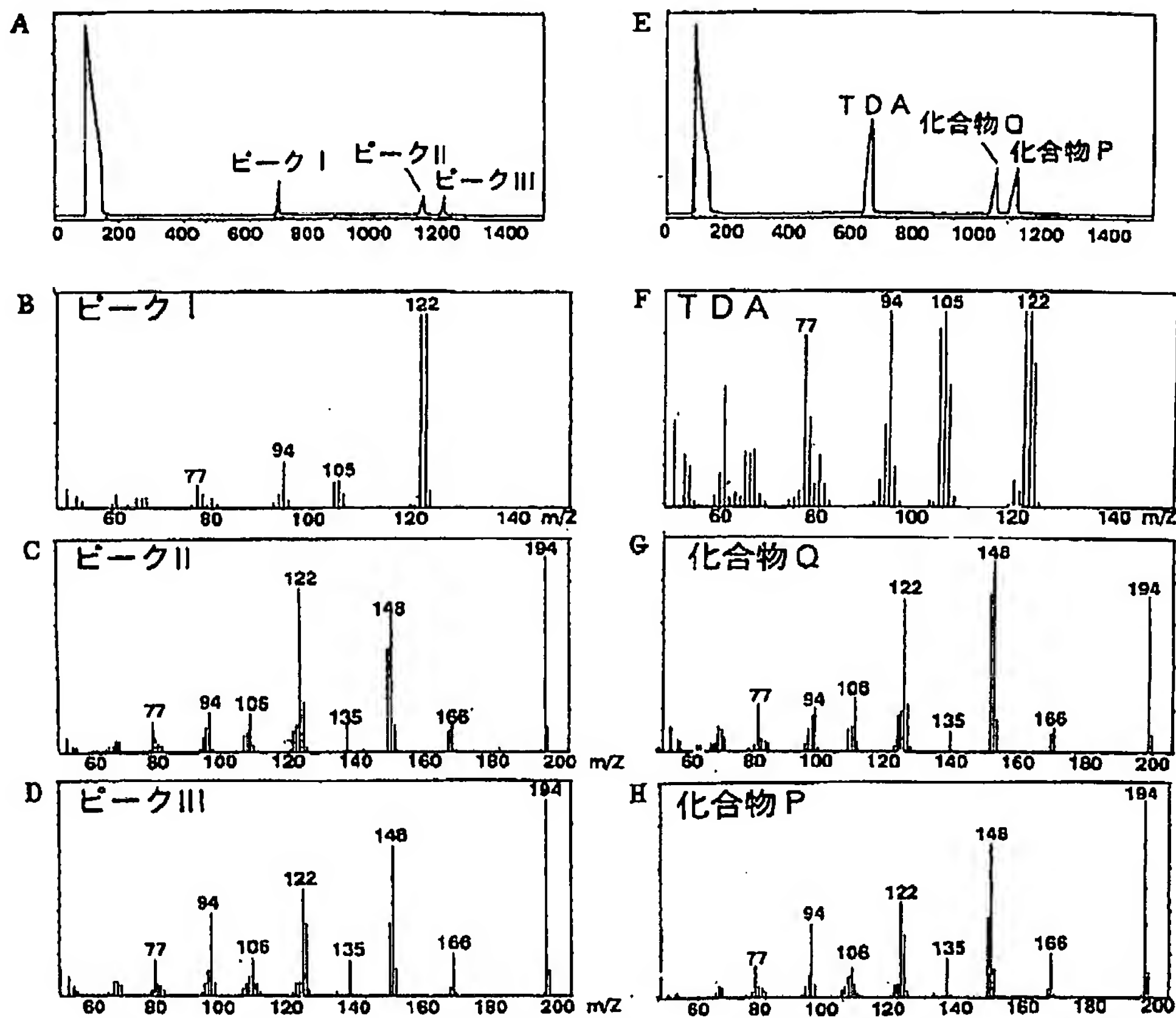
【図1】実施例2における分解生成物の分析結果を示すガスクロマトグラフおよびマススペクトルである。

【図2】実施例3における各ウレタン化合物A、P、QおよびTDAの濃度の経日変化を示す図である。

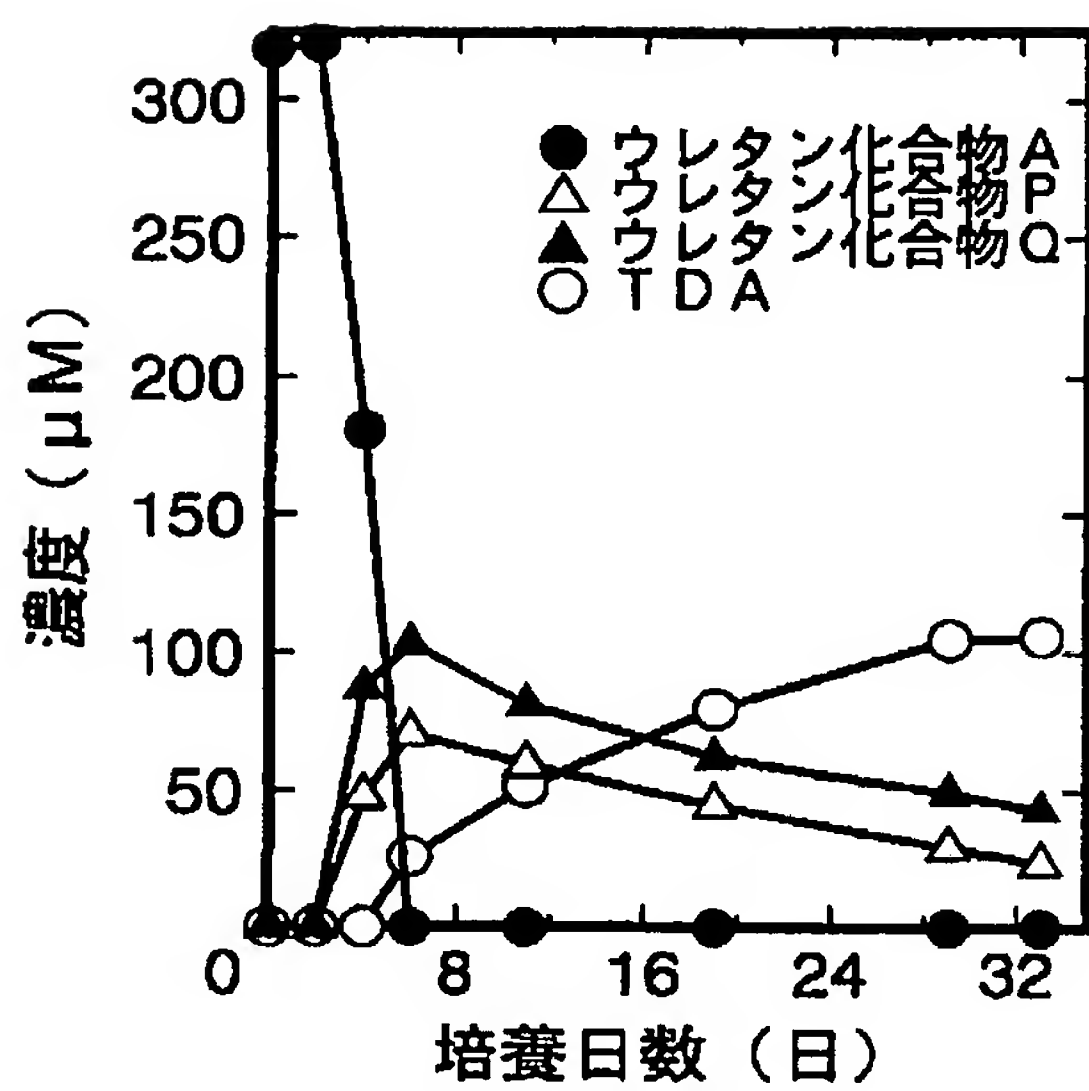
【図3】ATCC保存菌による各ウレタン化合物A、P、QおよびTDAの濃度の経日変化を示す図である（a：ATCC No.10224、b：ATCC No.16637）。

【図4】REN-11A、ATCC No.10224およびNo.16637によるウレタン化合物Aの分解能を対比した図である。

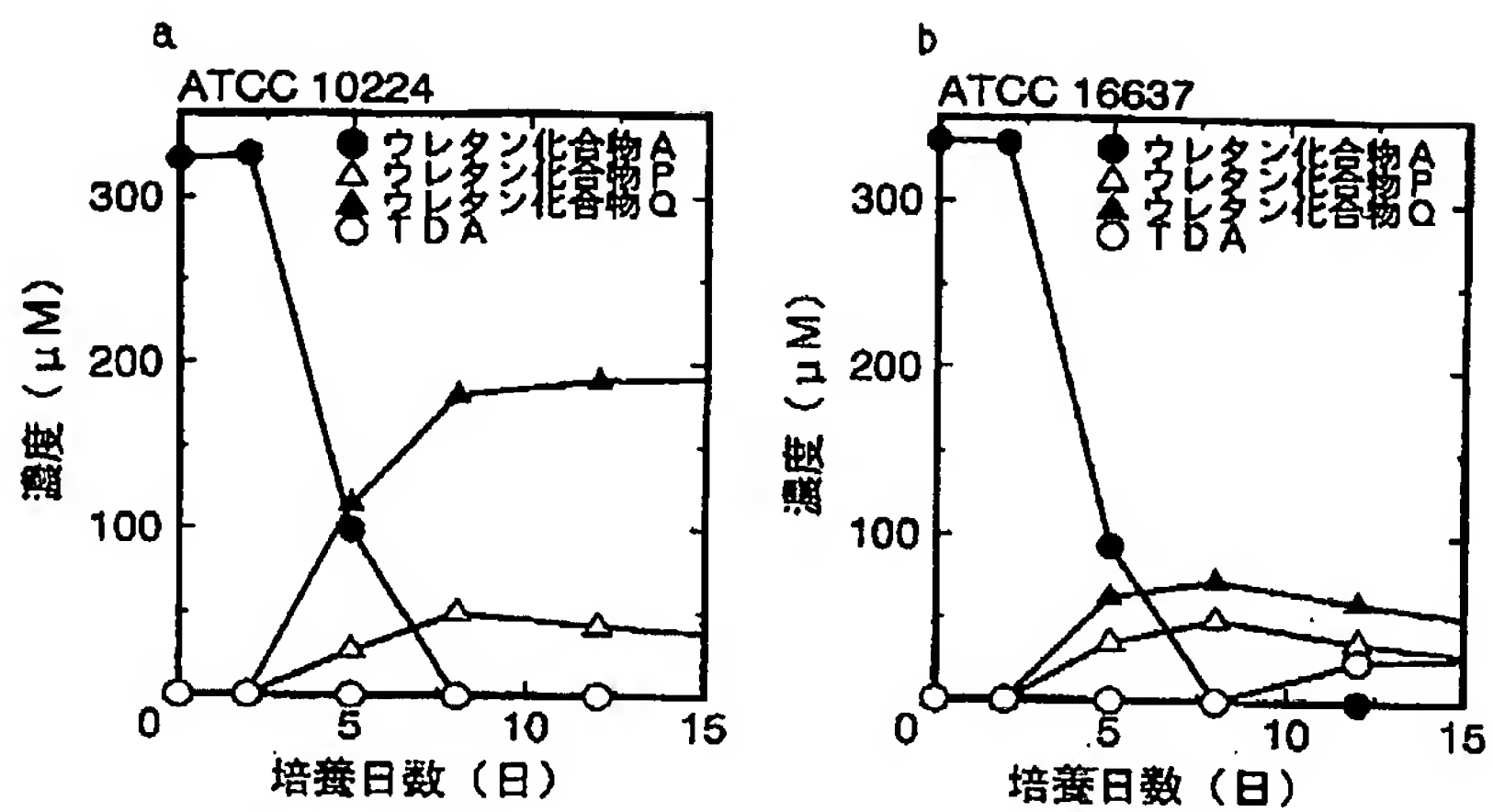
【図1】



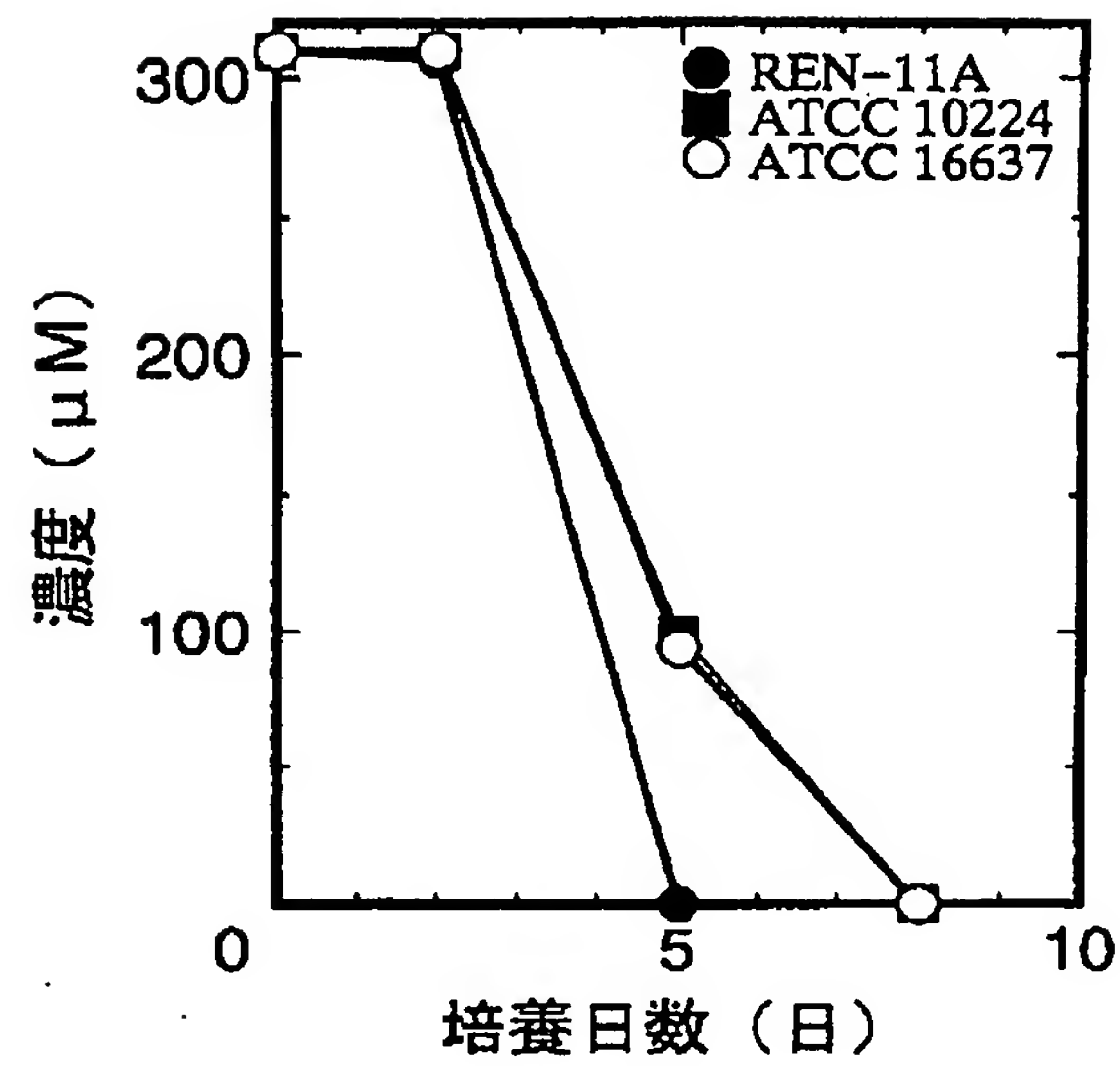
【図2】



【図3】



〔図 4〕




---

フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>6</sup>  
C 1 2 R 1:645)

識別記号

庁内整理番号

F 1

技術表示箇所

(72)発明者 正岡 諭  
大阪市福島区大開 4 丁目 1 番 186 号 レン  
ゴー株式会社中央研究所内

(72)発明者 大江 達彦  
大阪府堺市城山台 1 - 26 - 3